



Departement für Kleintiere, Klinik für Kleintiermedizin
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Direktorin: Prof. Dr. Claudia Reusch Dipl. ECVIM-CA

Arbeit unter der Leitung von Dr. med. vet. Tony Glaus
Dipl. ACVIM und ECVIM-CA (Cardiology)

**Bestimmung des Plasma proatrialen natriuretischen Peptids 31- 67 zur
Diagnose der Herzinsuffizienz beim Hund**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde
der Vetsuisse-Fakultät
Universität Zürich

vorgelegt von

Franziska Hauswirth Reich
Tierärztin von Saanen

genehmigt auf Antrag von

Prof. Dr. Claudia Reusch Dipl. ECVIM-CA, Referentin
Prof. Dr. Max Gassmann, Korreferent

Zürich, 2004

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	1
Evaluation of plasma pro atrial natriuretic peptide (proANP 31-67) as a diagnostic tool in dogs with heart disease	2
Einleitung	3
Material und Methoden	8
Hunde	8
Röntgen	9
Echokardiographie	9
Blutgasanalyse.....	10
Blutproben für die proANP Bestimmung	10
Messung des proANPs	10
Statistik:	11
Resultate	12
Alters- und Gewichtsunterschiede	12
Röntgenuntersuchung des Thorax.....	15
Echokardiographie	16
ProANP	19
Diskussion	21
Literaturliste	25
Danksagung	29

Zusammenfassung

Das atriale natriuretische Peptid (ANP) ist ein Hormon, welches bei Herzinsuffizienz vermehrt aus dem Myokard ausgeschüttet wird. Leider ist die Bestimmung sehr schwierig und aufwändig und deswegen für den klinischen Alltag nicht verfügbar. Seit einiger Zeit kann das biologisch inaktive Fragment proANP 31-67 mit einem ELISA einfach gemessen werden. Zur Beurteilung seines diagnostischen Nutzens in praxi wurde dieses proANP-Fragment bei folgenden Hunden bestimmt: bei gesunden Hunden, asymptomatischen Hunden mit einer Mitralklappenendokardiose (MI), Hunden mit MI und Husten aufgrund einer Erkrankung des Respirationsapparates, Hunden mit Herzinsuffizienz infolge MI oder dilatativer Cardiomyopathie (DCM), bei gesunden Hunde mit Höhenhypoxie und bei einem Hund mit Dyspnoe infolge einer Bronchopneumonie. Die gesunden Hunde hatten einen proANP Spiegel zwischen 309-1100 fmol/l (Median 751 fmol/l). Bei asymptomatischen Hunden lag der proANP Spiegel zwischen 214-1570 fmol/l (Median 824 fmol/l) und war statistisch nicht verschieden von den normalen Hunden. Hunde mit MI und Husten infolge einer respiratorischen Ursache hatten proANP Spiegel zwischen 100-1882 fmol/l (Median 501 fmol/l). Hypoxische Hunde hatten signifikant höhere proANP Werte (767-1837 fmol/l, Median 1186 fmol/l) im Vergleich zu den gesunden Hunden, den asymptomatischen Hunden und den Hunden mit MI und Husten infolge einer Respirationstrakterkrankung. Symptomatische Hunde infolge MI hatten proANP Spiegel von 868-4388 fmol/l (Median 2619 fmol/l) und Hunde mit DCM hatten proANP Spiegel von 165-4934 fmol/l (Median 3445 fmol/l), beide signifikant höher als alle anderen Gruppen. Der Patient mit Dyspnoe infolge Pneumonie hatte einen proANP Spiegel von 3936 fmol/l, einen Wert im Bereich der höchsten Werte bei Hunden mit Herzversagen. Der proANP Spiegel korrelierte mit der radiologischen und der echokardiographischen Grösse des Herzens, des linken Vorhofs und des linken Ventrikels.

Obwohl proANP mit zunehmender Herzerweiterung und bei Herzversagen ansteigt, genügt die proANP Bestimmung nicht zur sicheren Diagnose eines Herzversagens, da auch eine mittelgradige Hypoxie zum Anstieg des proANP führen kann. Zudem ist ein akutes Herzversagen meist eine Notfallsituation, das Resultat käme für die Wahl der Therapie zu spät. Die proANP Bestimmung kann eine korrekte klinische und bildgebende Untersuchung und Beurteilung unterstützen, diese aber nicht ersetzen.

Evaluation of plasma pro atrial natriuretic peptide (proANP 31-67) as a diagnostic tool in dogs with heart disease

Natrial atriuretic peptide (ANP) is a hormone that is secreted in increased amounts from the myocardium in cardiac failure. However, the measurement of plasma ANP is very difficult and labour intensive, and thus not useful for practical purposes. Recently a commercial ELISA was introduced that allows measurement of the biologically inactive fragment proANP 31-67. To assess its practical diagnostic use we measured this proANP fragment in plasma of healthy control dogs, asymptomatic dogs with heart murmurs, coughing dogs due to primary respiratory disease and that concomitantly had mitral endocardiosis (MI), dogs symptomatic due to MI or due to dilated cardiomyopathy, normal dogs with elevated altitude hypoxia, and one dyspneic dog due to bronchopneumonia.

Healthy dogs had plasma proANP values between 309-1100 fmol/l (Median 751 fmol/l). In asymptomatic dogs proANP values were between 214-1570 fmol/l (Median 824 fmol/l), not statistically different from normal dogs. Dogs with mitral insufficiency but cough due to respiratory tract disease had proANP values between 100-1882 fmol/l (Median 501 fmol/l). Dogs with high altitude hypoxia had significantly higher values (767-1837 fmol/l, Median 1186 fmol/l) than control dogs, asymptomatic dogs and dogs with primary respiratory disease. Symptomatic dogs due to mitral endocardiosis had proANP values of 868-4388 fmol/l (Median 2619 fmol/l) and dogs with dilated cardiomyopathy had values of 165-4934 fmol/l (Median 3445 fmol/l), both significantly higher than in all other groups of dogs. The one dog with severe dyspnea due to bronchopneumonia and a normal heart based on necropsy had a markedly elevated proANP of 3936 mol/l, a value similar to the highest values in dogs with heart failure. ProANP levels correlated with radiological and echocardiographic cardiac, left atrial and left ventricular size.

Even though proANP levels increase with increasing heart size and cardiac failure, measuring proANP does not provide sufficient evidence to confirm cardiac failure, since moderate hypoxia without cardiac disease leads to elevated levels as well. In addition, cardiac failure usually is a medical emergency, and immediate treatment is warranted before levels of proANP can be obtained. For these reasons measuring plasma proANP is only of limited practical utility, and will not replace a clinical and diagnostic imaging examinations.

Einleitung

Die Feststellung einer Herzerkrankung ist für den Kliniker meist einfach, speziell wenn ein Herzgeräusch auskultiert werden kann. Deutlich schwieriger ist es, das Stadium einer Herzinsuffizienz zu bestimmen oder zu unterscheiden, ob die beobachteten Symptome tatsächlich die Folge einer Herzerkrankung sind.⁽¹⁾

Insbesondere kann es schwierig sein zu differenzieren, ob die Ursache einer schwerwiegenden Dyspnoe auf ein Herz- oder ein primäres Atemwegsproblem zurückzuführen ist. Die korrekte Diagnose einer Herzinsuffizienz ist jedoch von zentraler Bedeutung für die adäquate Behandlung in einer Notfallsituation und für eine entsprechende Langzeitbehandlung.

Die zentralen Funktionen von Herz und Kreislauf sind die Aufrechterhaltung des arteriellen Blutdrucks, der peripheren Perfusion und des venösen Rückflusses. Bei steigender physischer Belastung steigt die Arbeitsbelastung des Herzens. Damit diese Aufgaben im gesunden Organismus bei unterschiedlicher Belastung optimal erfüllt werden können, existieren verschiedene endokrine Adaptationssysteme zur Kontrolle von Kontraktilität, Gefäßtonus und Wasserhaushalt. Hormone zur Steigerung der Kontraktilität, des Gefäßtonus und der Wasserretention sind neben anderen das sympatho-adrenerge System (SAS), das Renin-Angiotensin-Aldosteron (RAAS) System, Endothelin und Vasopressin. Hormone zur Senkung des Gefäßtonus und zur vermehrten Wasserausscheidung sind Stickstoffmonoxid (NO) und natriuretische Peptide, darunter das atriale natriuretische Peptid (ANP).

Diese Regelsysteme spielen auch eine wichtige Rolle bei der Kompensation herzkranker Patienten. Mit zunehmender Herzinsuffizienz überwiegen die kontraktilitätssteigernden, blutdruckhebenden und wasserretenierenden Systeme und unterdrücken die natürlichen Gegenspieler, nämlich Vasodilatoren und natriuretische Faktoren. Durch die so gesteigerte Druckbelastung des Herzens und Volumenüberladung des Kreislaufs entwickelt sich eine Stauungsinsuffizienz.⁽²⁾

Nachdem die positiven und negativen Wirkungen dieser Kompensationsmechanismen erkannt worden waren, lag es nahe, diese Erkenntnisse diagnostisch und therapeutisch auszunutzen. So konnte gezeigt werden, dass die messbare Aktivierung des SAS bei Menschen mit Herzversagen eine negative prognostische Bedeutung hat.⁽³⁾ Im weiteren steigert die Gabe von Sympathikomimetika bei herzinsuffizienten Patienten zwar kurzfristig die Belastbarkeit, langfristig senken sie aber die Lebenserwartung.^(4, 5) Demgegenüber

verbessert die Gabe von Betablockern trotz negativer Inotropie langfristig die Belastbarkeit, Lebensqualität und Lebenserwartung. Auch die Hemmung des RAAS verbessert bei Mensch und Hund mit fortgeschrittener Herzinsuffizienz die Lebensqualität und Lebenserwartung.^(6, 7) Bei Hunden ist das RAAS aber erst bei hochgradigem Herzversagen nach Applikation von Diuretika messbar aktiviert.⁽⁸⁾ Die Messung der Aktivierung des RAAS hat demzufolge beim Hund keine praktische diagnostische Relevanz.

Natriuretische Peptide wurden 1981 entdeckt und sind seither sehr intensiv studiert worden.⁽⁹⁾ Natriuretische Peptide entfalten endokrine Wirkungen; sie bewirken eine Natriurese, eine Vasodilatation, hemmen die Aldosteron-Synthese, die Vasopressin- und ACTH-Sekretion, unterdrücken den Durst und haben anti-sympathische Effekte. Durch diese multiplen regulatorischen Einflüsse auf den Tonus der glatten Gefäßmuskulatur und den Flüssigkeitshaushalt senken natriuretische Peptide das Blutvolumen und den Blutdruck.^(10, 11)

ANP wird in Kardiozyten des linken und rechten Atriums und bei kongestivem Herzversagen auch in beiden Ventrikels produziert. Die Sekretion des biologisch aktiven C-terminalen Fragments 99-126, eines Polypeptids aus 28 Aminosäuren, wird stimuliert durch mechanische Dehnung der Atriumwand oder durch erhöhten transmuralen Druck (Abb. 1).^(10, 12, 13)

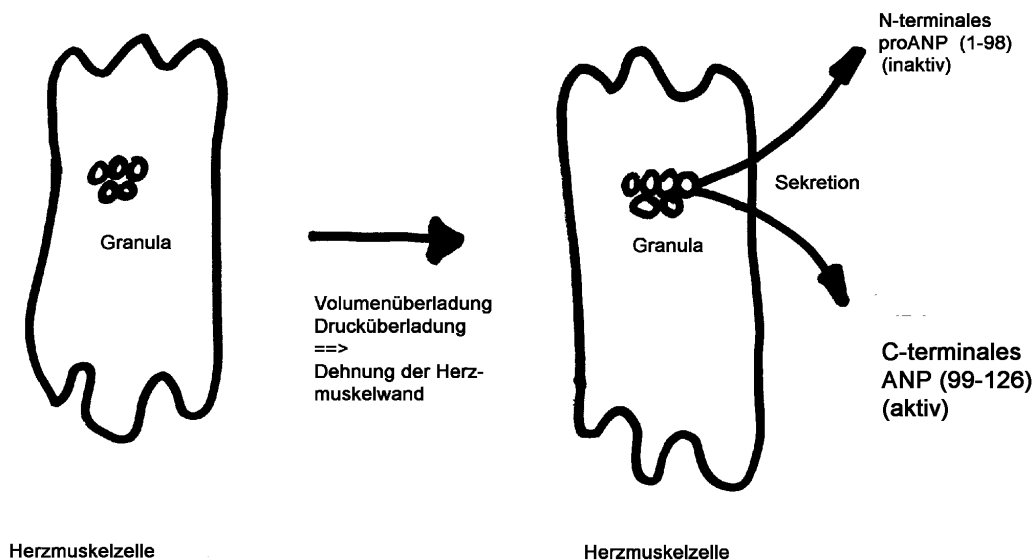


Abb. 1: Schematische Darstellung der Ausschüttung von N-terminalem proANP 1-98 und C-terminalem ANP 99-126 aus atrialem Kardiozyt.

Es war naheliegend, diesen natürlichen Gegenspieler von Hypertonie und Wasserretention bei Patienten mit Herzversagen in pharmakologischer Dosierung therapeutisch einzusetzen. Gegenwärtig wird synthetisches ANP bei der Behandlung des akuten Herzversagens gebraucht.⁽¹⁴⁾

Aus diagnostischer Sicht könnte die Bestimmung von ANP eine Bedeutung bei der Beurteilung des Schweregrades einer Herzinsuffizienz haben. Tatsächlich haben Hunde mit Herzversagen einen erhöhten ANP-Plasmaspiegel.⁽¹⁵⁾ Da dieses Peptid sehr labil ist und es infolge seiner ultrakurzen Halbwertszeit innert Sekunden degradiert wird, müssen zur korrekten Messung rigorose Qualitätsanforderungen erfüllt werden. Die Blutproben müssen in vorgekühlte Behälter entnommen, mit einem Protesaseinhibitor gemischt und sofort in einer Kühlzentrifuge zentrifugiert werden. Anschliessend muss das gewonnene Plasma sofort eingefroren werden. Im Labor sind weitere Schritte wie Extraktion und Reinigung nötig. Infolge dieses grossen Aufwandes ist die ANP-Bestimmung als praktischer diagnostischer Test ungeeignet.

Neben dem biologisch aktiven C-terminalen ANP 99-126 wird aus den Atrien das biologisch nicht aktive N-terminale proANP 1-98 ^(16, 17) ausgeschüttet. Dieses proANP 1-98 wird in der Zirkulation in drei weitere Fragmente gespalten, in proANP 1-30, 31-67 und 79-98 (Abb. 2).⁽¹⁸⁾ Die verschiedenen Fragmente haben eine ca. zehnmal längere Halbwertszeit in der Zirkulation als ANP⁽¹⁹⁾. Sie können deshalb mit geringerem Aufwand bestimmt werden.

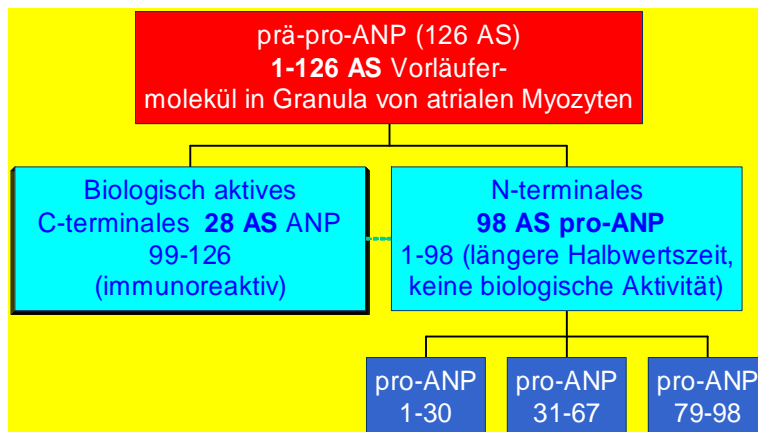


Abb. 2: vereinfachte schematische Darstellung des ANP-Vorläufermoleküls, des biologisch aktiven ANP und der verschiedenen proANP Formen.

Das N-terminale (NT)-proANP 1-98 gilt beim Mensch als Marker einer linksventrikuläre Dysfunktion.⁽²⁰⁾ Humane proANPs haben eine grosse Homologie mit caninen proANP Fragmenten. Das NT-proANP 1-98 wurde in der Veterinärmedizin bereits mittels RIA gemessen und korreliert bei der Mitralklappenendokardiose des Cavalier King Charles mit dem Schweregrad des Herzversagens.^(21, 22)

In jüngerer Zeit sind ELISAs zum Nachweis von proANP Fragmenten entwickelt worden und es ist auch ein ELISA zur Bestimmung des proANP 31-67 beim Hund erhältlich (Vetsign Canine Cardioscreen®, Guildhay Limited Guildford Surrey, England.)

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, den diagnostischen Nutzen der proANP 31-67 Bestimmung unter Praxisbedingungen zu testen. Insbesondere sollten folgende Fragen geklärt werden:

- Korreliert dieser Test mit dem Schweregrad einer Herzinsuffizienz?
- Dient dieser Test zur Früherkennung einer Herzinsuffizienz?
- Hat dieser Test einen Nutzen bei der Differenzierung einer respiratorischen von einer kardialen Ursache einer Dyspnoe?
- Kann dieser Test therapeutische Entscheidungen unterstützen?
- Ist dieser Test damit eine sinnvolle Ergänzung der kardiologischen Diagnostik?

Material und Methoden

Hunde

Die Untersuchungen wurden an Patienten der Praxis Laupeneck, Bern und der Abteilung für Kardiologie, Vetsuisse Fakultät der Universität Zürich, zwischen 2001 und 2003 vorgenommen. Als Kontrolle dienten klinisch gesunde Hunde, bei welchen keine Hinweise auf eine kardiovaskuläre Erkrankung vorlagen und anlässlich eines Routine-Gesundheitschecks eine Blutprobe entnommen wurde. Aufgrund der klinischen und radiologischen Befunde wurden die Hunde in 7 Gruppen eingeteilt.

Gruppe 1, Kontrollhunde: 16 Hunde, 15 weiblich und 1 männlich. Die Hunde wurden aufgrund von Anamnese, klinischer Untersuchung, Blutdruckmessung, Blut- und Harnanalyse als gesund beurteilt.

Gruppe 2, asymptotische Hunde mit einem systolischen Herzgeräusch: 23 Hunde, 11 weiblich und 12 männlich. Die Lautstärke der Herzgeräusche wurde als 1-4/6 (Median 3/6) beurteilt. Die Ursache des Herzgeräusches war bei 18 Hunden eine Mitralklappenendokardiose, bei einem Hund eine Trikuspidalklappenendokardiose und bei 4 Hunden eine milde Subaortenstenose. Mit Ausnahme des Herzgeräusches waren die Hunde aufgrund von Anamnese, klinischer Untersuchung, Blutdruckmessung, Blut- und Harnanalyse normal. Zur Quantifizierung der Herzgrösse, des Kompensationsgrades und zur exakten Diagnosestellung wurden Röntgenbilder des Thorax angefertigt und eine Ultraschalluntersuchung des Herzens durchgeführt.

Gruppe 3, symptomatische Hunde mit Husten infolge einer primären Respirationstrakterkrankung, und mit einem Herzgeräusch infolge einer Mitralklappenendokardiose ohne Hinweise für eine Herzinsuffizienz (im Folgenden „MI Hunde mit einer respiratorischen Hustenursache“ genannt): 8 Hunde, 4 weiblich und 4 männlich. Die Lautstärke des Herzgeräuschs wurde als 2-4/6 (Median 2/6) beurteilt. Zur Quantifizierung der Herzgrösse, des Kompensationsgrades und zur exakten Diagnosestellung wurden Röntgenbilder des Thorax angefertigt und eine Ultraschalluntersuchung des Herzens durchgeführt.

Gruppe 4, symptomatische Hunde mit Herzinsuffizienz infolge einer Mitralklappen-Endokardiose (im Folgenden „Hunde mit symptomatischer MI“ genannt): 10 Hunde, 6 weiblich und 4 männlich. Die Lautstärke des Herzgeräuschs wurde als 3-5/6 (Median 4,5/6) beurteilt. Zur Quantifizierung der Herzgrösse, des

Dekompensationsgrades und zur exakten Diagnosestellung wurden Röntgenbilder des Thorax und eine Ultraschalluntersuchung des Herzens durchgeführt.

Gruppe 5, symptomatische Hunde mit Herzinsuffizienz infolge einer dilatativen Kardiomyopathie („im Folgenden Hunde mit DCM“ genannt): 11 Hunde, 2 weiblich und 9 männlich. Zur Quantifizierung der Herzgrösse, des Dekompensationsgrades und zur exakten Diagnosestellung wurden Röntgenbilder des Thorax und eine Ultraschalluntersuchung des Herzens durchgeführt.

Gruppe 6, Hunde mit natürlicher Hypoxie: 19 Grönländer, welche permanent auf rund 2300 m.ü.M. leben, 10 weiblich und 9 männlich. Der arterielle Sauerstoffpartialdruck war $61,0 \pm 7.4$ mmHg und die Sauerstoffsättigung $90,7 \pm 3,7$ %. Neben einer leichtgradigen pulmonären Hypertonie wurden diese Hunde aufgrund von Anamnese, klinischer Untersuchung, Blut- und Harnanalyse, Blutdruckmessung und Herzultraschalluntersuchung medizinisch und kardiologisch als normal beurteilt.^(23, 24)

Gruppe 7, Hunde mit respiratorisch bedingter hochgradiger Dyspnoe: 1 männlicher elfjähriger Yorkshire Terrier, 3.3 kg. Der Hund wurde notfallmässig vorgestellt und verstarb wenige Stunden nach Aufnahme. Klinisch und radiologisch war intra vitam die Ursache der Dyspnoe nicht gesichert. Die exakte Diagnose einer hochgradig eitrigten Bronchopneumonie und der definitive Ausschluss einer Herzerkrankung erfolgten mittels Autopsie. Dieser einzelne Hund wurde nicht in den Statistiken berücksichtigt.

Röntgen

Die Aufnahmen wurden in links-lateraler und dorso-ventraler Position in Endinspiration angefertigt. Alle Röntgenbilder wurden am Ende der Studie von einem geblindeten Radiologen beurteilt und ausgemessen. Die Röntgenbilder wurden bezüglich Herzgrösse, Stauung der Lungenvenen und Vorliegen von interstitiellem und alveolärem Lungenödem beurteilt. Die Herzgrösse wurden in der latero-lateralen Ebene nach der Buchanan vertebraalen Herz-Skala (VHS) quantifiziert.⁽²⁵⁾ Bei dieser Methode zur Bestimmung der Herzgrösse wird das Herz in seiner Länge und Breite ausgemessen und mit der Länge der Brustwirbelsäule verglichen.

Echokardiographie

Für die Herzultraschalluntersuchungen wurden folgende Geräte verwendet: Laupeneck Bern, Aloca 1700; Abteilung für Kardiologie Tierspital Zürich, Acuson Sequoia 512; Hunde mit Höhenhypoxie beim Eigergletscher Grindelwald, GE Logic

500. Für die Untersuchung wurden die Hund in lateraler Seitenlage auf einem Herzultraschalltisch positioniert. Die 2-dimensionalen (2D) und Motion (M)-mode echokardiographischen Untersuchungen wurden mit einem 6 oder 7 Mhz Transducer nach der Standardmethode durchgeführt.⁽²⁶⁾ Messungen und Berechnungen zur Beurteilung der linksventrikulären Volumenüberladung und Kontraktilität beinhalteten den Durchmesser des linken Ventrikels in End-diastole (LVDD) und End-systole (LVDS) und die Verkürzungsfraktion (FS), dargestellt von rechts parasternal im M-Mode Kurzachsenbild. Um grosse und kleine Hunde statistisch miteinander vergleichen zu können, wurden anhand der LVDD und LVDS die diastolischen und systolischen Volumenindices berechnet.⁽²⁷⁾ Zur Beurteilung der linksatrialen Dilatation wurde das Verhältnis des Durchmessers des linken Atriums zur Aorta im 2-D-Kurzachsenbild berechnet (Quotient LA/Ao).⁽²⁸⁾ Alle Aufnahmen wurden auf Videoband gespeichert und nachträglich auf dem Acuson Sequoia 512 nachgemessen.

Blutgasanalyse

Für die arterielle Blutgasanalyse wurde Blut aus der A. femoralis entnommen und sofort mit einem portablen i-stat Clinical Analyser untersucht.^(23, 26)

Blutproben für die proANP Bestimmung

Blut für die Bestimmung des Plasma proANP wurde durch Venopunktion der Vena cephalica antebrachii oder Vena jugularis gewonnen. Das entnommene Blut wurde in K-EDTA-Behälter verbracht und innert 30 Minuten zentrifugiert. Das Plasma wurde anschliessend abpipettiert und sofort bei -20°C eingefroren. Die Proben des Tierspitals Zürich wurden auf Trockeneis ins Labor Laupeneck transportiert und dort bis zur Messung bei -20°C gelagert. ProANP 31-67 bleibt bei -20°C stabil.⁽¹⁸⁾

Messung des proANPs

Der Test ist ein kompetitiver ELISA mit hochgereinigten Schafantigenen für humanes proANP 31-67 in solider Phase (Vetsign Canine CardioScreen®).⁽¹⁸⁾ Die Reaktion basiert auf der kompetitiven Verdrängung der nichtmarkierten Peptide der Proben oder des Standards mit dem Tracerpeptid um die limitierten Bindungsstellen des proANP 31-67 Antikörpers. Die Konzentration des Tracers und diejenige der Antikörperbindungsstelle in allen Einheiten sind konstant. Die einzige Variable im System ist die Konzentration der nichtmarkierten Peptide in den Standards,

Kontrollen und Proben. Mit zunehmender Konzentration des Peptids im Standard wird die Bindung des kompetitiven Tracers proportional reduziert. Nach einem Waschschrift wird Peroxidase-konjugiertes Streptavidin beigefügt, welches an Biotin des gebundenen Tracers bindet. Nach Entfernung des zugefügten Streptavidins durch erneutes Waschen wird Substrat zugefügt. Gebundenes biotinyliertes proANP 31-67 wird nun quantifiziert durch einen enzym-katalysierten Farbwechsel auf einem Standard ELISA Plattenleser. Die Intensität der Farbentwicklung ist umgekehrt proportional zur Menge proANP 31-67 Immunreaktivität, welche im Standard oder in der Probe vorhanden ist. Anschliessend wird eine Standardkurve der gemessenen Werte extrapoliert. Die Konzentration von proANP in den Proben wird daraus errechnet. Gemäss Hersteller gelten proANP Werte <1350 fmol/l als normal, Werte zwischen 1350 und 1700 fmol/l als Grauzone und Werte >1700 fmol/l als erhöht.

Statistik:

Statistische Unterschiede zwischen den Gruppen und Korrelationen wurden mit einem kommerziellen Programm SPSS ® Version 14.0 und nicht parametrischen Tests berechnet. Gruppenunterschiede wurden zuerst mittels Kruskal Wallis untersucht. Anschliessend wurden Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen mit dem Mann-Whitney-U-Test und Korrelationen mit dem Spearman Rank Test berechnet. Ein $p < 0.05$ galt als statistisch signifikant. Die Daten werden als Bereich und Median angegeben.

Resultate

Im Anschluss folgen die Resultate betreffend der Alter- und Gewichtsunterschiede, der kardialen Parameter und schliesslich der proANP Messungen.

Alters- und Gewichtsunterschiede

Die Kontrollhunde waren 1-12 jährig (Median 5.5), die asymptomatischen Hunde 1-15 jährig (Median 12), die MI Hunde mit einer respiratorischen Hustenursache 5-14 jährig (Median 10.5), die Hunde mit symptomatischer MI 10-13 jährig (Median 10.5), die Hunde mit DCM 4-12 jährig (Median 7) und die Hunde mit Höhenhypoxie 2-11 jährig (Median 9). Die asymptomatischen Hunde, die MI Hunde mit einer respiratorischen Hustenursache und die Hunde mit symptomatischer MI unterschieden sich nicht im Alter, waren aber signifikant älter als die Kontrollhunde, die Hunde mit DCM und die Hunde mit Höhenhypoxie. Letztere unterschieden sich nicht im Alter.

Die asymptomatischen Hunde, die MI Hunde mit einer respiratorischen Hustenursache und die Hunde mit symptomatischer MI waren signifikant älter als die Kontrollhunde, die Hunde mit DCM und die Hunde mit Höhenhypoxie (Abb. 3).

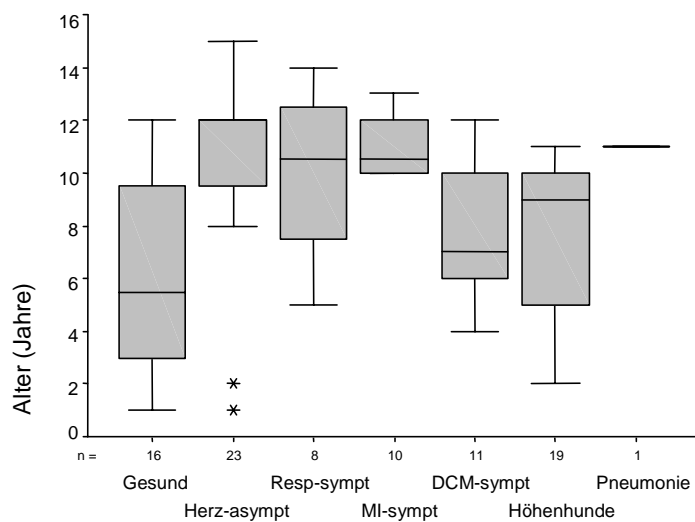


Abb. 3: Boxplotdarstellung des Alters

Legende für diese und alle folgenden Boxplotabbildungen:

Die Kästchen stellen den Median, die 25. und die 75. Perzentile, die horizontalen Linien die 5. und 95. Perzentile, die Kreise statistische Ausreisser und die Sterne Extreme dar.

Gesund:	Gruppe 1, Kontrolltiere
Herz-asympt:	Gruppe 2, Asymptomatische Patienten mit systolischem Herzgeräusch
Resp-sympt:	Gruppe 3, symptomatische Hunde mit Husten infolge einer primären Respirationstrakterkrankung, und mit einem Herzgeräusch infolge einer Mitralklappen-Endokardiose ohne Hinweise für eine Herzinsuffizienz
Mi-sympt:	Gruppe 4, Symptomatische Hunde infolge einer Mitralklappenendokardiose
DCM-sympt:	Gruppe 5, Symptomatische Hunde infolge einer dilatativen Kardiomyopathie
Höhenhunde	Gruppe 6, Hunde mit Höhenhypoxie Gruppe 7, Einzelhund mit Dyspnoe infolge Pneumonie

Die Kontrollhunde wogen 7-33 kg (Median 24), die asymptomatischen Hunde 2-33 kg (Median 8), die MI Hunde mit einer respiratorischen Hustenursache 7-14 kg (Median 8), die Hunde mit symptomatischer MI 2-30 kg (Median 8), die Hunde mit DCM 15-86 kg (Median 28) und die Hunde mit Höhenhypoxie 23-35 kg (Median 27) (Abb. 4). Die Kontrollhunde waren signifikant schwerer als die asymptomatischen Hunde, die MI Hunde mit einer respiratorischen Hustenursache und die Hunde mit symptomatischer MI, leichter als die Hunde mit Höhenhypoxie und nicht verschieden von den Hunden mit DCM. Die asymptomatischen Hunde, die MI Hunde mit einer respiratorischen Hustenursache und die Hunde mit symptomatischer MI unterschieden sich nicht im Gewicht, waren aber signifikant leichter als die Kontrollhunde, die Hunde mit DCM und die Hunde mit Höhenhypoxie. Die Hunde mit DCM unterschieden sich nicht im Gewicht von den Kontrollhunden und den Hunden mit Höhenhypoxie.

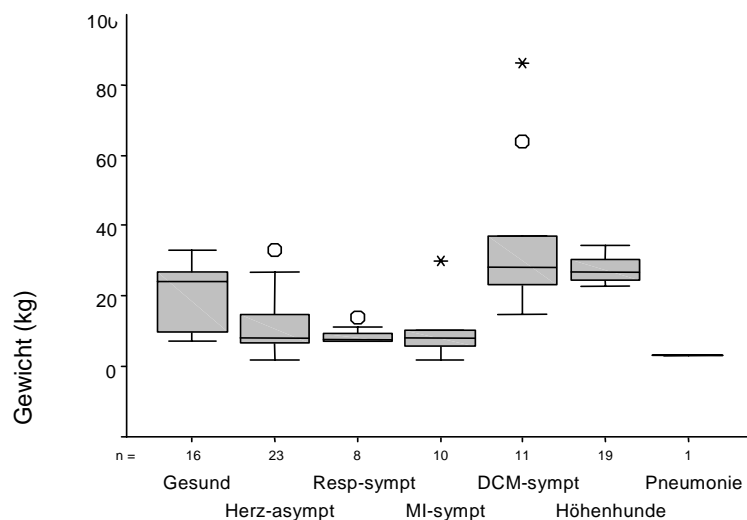


Abb. 4: Boxplotdarstellung des Körpergewichts

Röntgenuntersuchung des Thorax

Herzgrösse Vertebral Heartscale (VHS)

Die asymptomatischen Hunde (Gruppe 2, n=20) hatten eine VHS von 9–12 (Median 10.9), die MI Hunde mit einer respiratorischen Hustenursache (Gruppe 3, n=8) hatten eine VHS von 9.5-12 (Median 10.9), nicht verschieden von Gruppe 2 ($p=0.44$).

Die symptomatischen MI Hunde (Gruppe 4, n=7) hatten eine VHS von 11–12.2 (Median 12), signifikant grösser als asymptotische Hunde ($p<0.001$) und MI Hunde mit einer respiratorischen Hustenursache ($p=0.014$). Die Hunde mit DCM (Gruppe 5, n=9) hatten eine VHS von 11–14.6 (Median 13), signifikant grösser als Hunde der Gruppen 2, 3 ($p\leq 0.001$) und Gruppe 4 ($p=0.016$) (Abb. 5).

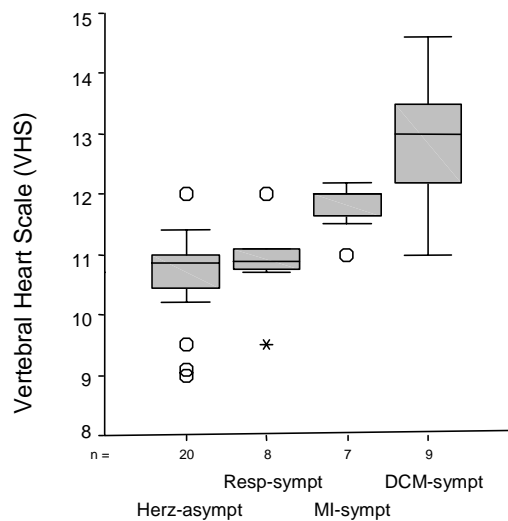


Abb. 5: Boxplotdarstellung der radiologischen Herzgrösse VHS

Echokardiographie

Vorhofgrösse Verhältnis Linkes Atrium zu Aorta (LA/Ao)

Der LA/Ao lag bei asymptomatischen Patienten (Gruppe 2, n=15) bei 1.3–2.1 (Median 1.5), bei MI Hunden mit einer respiratorischen Hustenursache (Gruppe 3, n=7) bei 1.1–2.0 (Median 1.4), bei Patienten mit symptomatischer MI (Gruppe 4, n=6) bei 1.7–2.7 (Median 2.3), bei Hunden mit DCM (Gruppe 5, n=9) bei 1.7–3.7 (Median 2.2) und bei den Hunden mit Höhenhypoxie (Gruppe 6, n=19) bei 0.9–1.4 (Median 1.1). Der LA/Ao der asymptomatischen Hunde war nicht verschieden von MI Hunden mit einer respiratorischen Hustenursache ($p=0.63$). Hunde mit symptomatischer MI und DCM unterschieden sich nicht ($p=0.96$), beide Gruppe hatten aber einen signifikant grösseren LA/Ao als alle anderen Gruppen ($p<0.005$). Die Hunde mit Höhenhypoxie hatten die kleinsten Vorhöfe aller ultrasonographisch untersuchten Gruppen ($p<0.01$) (Abb. 6).

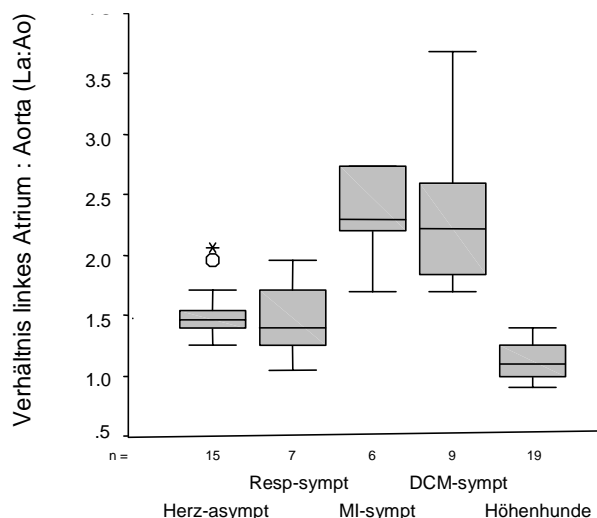


Abb. 6: Boxplotdarstellung der ultrasonographischen Vorhofgrösse LA/Ao

Diastolischer Volumenindex (LVDI)

Der LVDI lag bei asymptomatischen Patienten (Gruppe 2, n=16) bei 42–122 ml/m² (Median 76), bei MI Hunden mit einer respiratorischen Hustenursache (Gruppe 3, n=7) bei 59–128 (Median 97), bei Patienten mit symptomatischer MI (Gruppe 4, n=6) bei 108–240 (Median 176), bei Hunden mit DCM (Gruppe 5, n=8) bei 108–419 (Median 210) und bei den Hunden mit Höhenhypoxie (Gruppe 6, n=19) bei 59–103 (Median 83). Der LVDI war bei asymptomatischen Hunden, bei MI Hunden mit einer respiratorischen Hustenursache und bei Hunden mit Höhenhypoxie nicht

unterschiedlich ($p=0.45$ bis 0.83). Die LVDI der Hunde mit symptomatischer MI und DCM waren nicht unterschiedlich ($p=0.49$), aber signifikant grösser als bei allen anderen ultrasonographisch untersuchten Gruppen ($p \leq 0.005$) (Abb. 7).

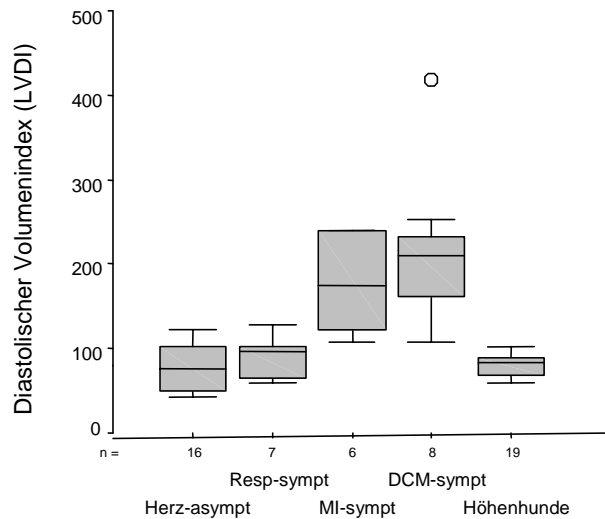


Abb. 7: Boxplotdarstellung der ultrasonographischen Herzgrösse LVDI

Systolischer Volumenindex (LVSI) und Verkürzungsfraction (FS)

Der LVSI lag bei asymptomatischen Hunden (Gruppe 2, $n=15$) bei $7-49 \text{ ml/m}^2$ (Median 24), bei MI Hunden mit einer respiratorischen Hustenursache (Gruppe 3, $n=7$) bei $5-62$ (Median 28), bei Patienten mit symptomatischer MI (Gruppe 4, $n=6$) bei $16-64$ (Median 32), bei Hunden mit DCM (Gruppe 5, $n=8$) bei $48-219$ (Median 152) und bei den Hunden mit Höhenhypoxie (Gruppe 6, $n=19$) bei $19-49$ (Median 28). Der LVSI war bei asymptomatischen Hunden, bei MI Hunden mit einer respiratorischen Hustenursache, bei symptomatischen MI Hunden und bei Hunden mit Höhenhypoxie nicht unterschiedlich ($p=0.15$ bis 0.87). Der LVSI der Hunde mit DCM war grösser als bei allen anderen ultrasonographisch untersuchten Gruppen ($p \leq 0.008$) (Abb. 8).

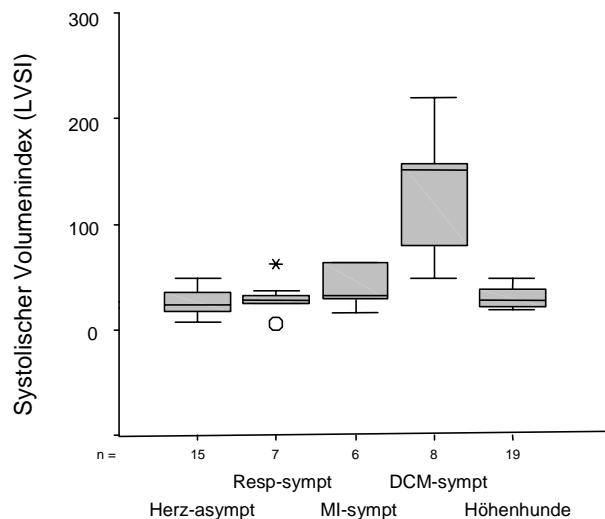


Abb. 8: Boxplotdarstellung der LVSI

Die Verkürzungsfraction oder Fraction Shortening (FS) war bei asymptomatischen Hunden 26-56% (Median 35), bei Patienten mit respiratorischer Ursache 26–62% (Median 34), bei symptomatischen MI Hunden 43–52% (Median 47), bei symptomatischer DCM 3–39% (Median 26) und bei den Hunden mit Höhenhypoxie 27–45% (Median 32).

Die FS war bei asymptomatischen Hunden, MI Hunden mit einer respiratorischen Hustenursache und Hunden mit Höhenhypoxie nicht verschieden. Die Hunde mit symptomatischer MI hatten eine signifikant höhere ($p \leq 0.05$) und die Hunde mit DCM eine signifikant tiefere FS ($p \leq 0.05$) als alle anderen ultrasonographisch untersuchten Gruppen (Abb. 8).

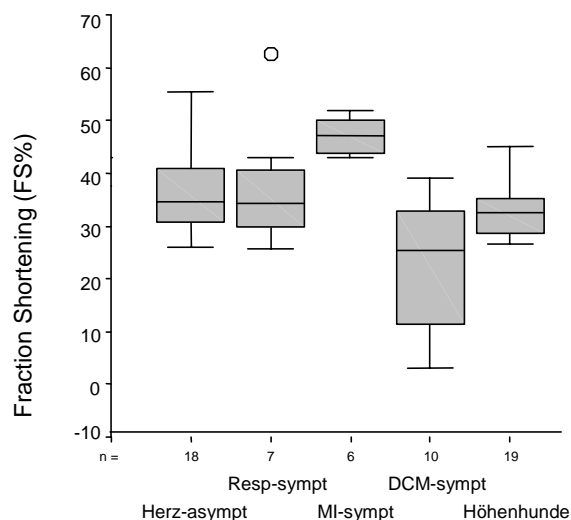


Abb. 9: Boxplotdarstellung der FS

ProANP

Die proANP Spiegel der Kontrollgruppe (Gruppe 1, n=16) lagen bei 309-1100 fmol/l (Median 751 fmol/l) und somit bei allen im Normalbereich. Bei den asymptomatischen Hunden (Gruppe 2, n=23) lag der proANP Spiegel bei 214-1570 fmol/l (Median 824 fmol/l), statistisch nicht verschieden von den Kontrollhunden ($p=0.10$). Zwei asymptomatische Hunde hatten proANP zwischen 1350-1700 fmol/l, also in der Grauzone. Die proANP Spiegel der MI Hunde mit einer respiratorischen Hustenursache (Gruppe 3, n=8) lagen bei 100–1882 fmol/l (Median 501 fmol/l), und waren nicht verschieden von den Kontrollhunden ($p=0.32$) und den asymptomatischen Hunde ($p=0.13$). Nur einer dieser Hunde hatte ein erhöhtes proANP >1350 fmol/l.

Die proANP Spiegel der Hunde mit symptomatischer MI (Gruppe 4, n=10) lagen bei 868–4388 fmol/l (Median 2619 fmol/l). Die Werte waren signifikant höher als bei den Gruppen 1, 2, 3 und 6 ($p\leq 0.002$). Sie waren bei 2 Hunden <1350 fmol/l, bei 2 Hunden in der Grauzone und bei 6 Hunden >1700 fmol/l. Wenn die Hunde dieser Gruppe 4 weiter unterteilt werden in eine Subgruppe mit kardiogenem Husten ohne Lungenödem und eine Subgruppe mit Lungenödem, dann hatten letztere signifikant höhere proANP Spiegel (868-1560 fmol/l, Median 1397 fmol/l, versus 2237– 4388 fmol/l, Median 3535 fmol/l; $p=0.01$). Keiner der Hunde mit Werten in der Grauzone (n=2) hatte Herzversagen, während alle Hunde mit proANP Spiegel >1750 fmol/l (n=6) klinisch und radiologisch Anzeichen von Herzversagen zeigten. Die proANP Spiegel der Hunde mit DCM (Gruppe 5, n=11) lagen bei 165-4934 fmol/l (Median 3445 fmol/l), signifikant höher als bei den Gruppen 1, 2, 3 und 6 ($p\leq 0.007$), aber nicht verschieden von Hunden mit symptomatischer MI ($p=0.42$). Sie waren bei zwei Hunden <1350 fmol/l, also im Normalbereich, und bei allen anderen >1700 fmol/l. Die Hunde mit Höhenhypoxie (Gruppe 7, n=19) hatten einen proANP Spiegel zwischen 767-1837 fmol/l (Median 1186 fmol/l), signifikant höher als bei den Hunden der Gruppen 1-3 ($p\leq 0.009$), und tiefer als bei den symptomatischen Herzpatienten (Gruppen 4 und 5, $p\leq 0.002$); bei 5 lagen die Werte >1350 fmol/l und bei 2 >1700 fmol/l. Der Hund mit Pneumonie hatte einen proANP Wert von 3936 fmol/l (Abb. 10).

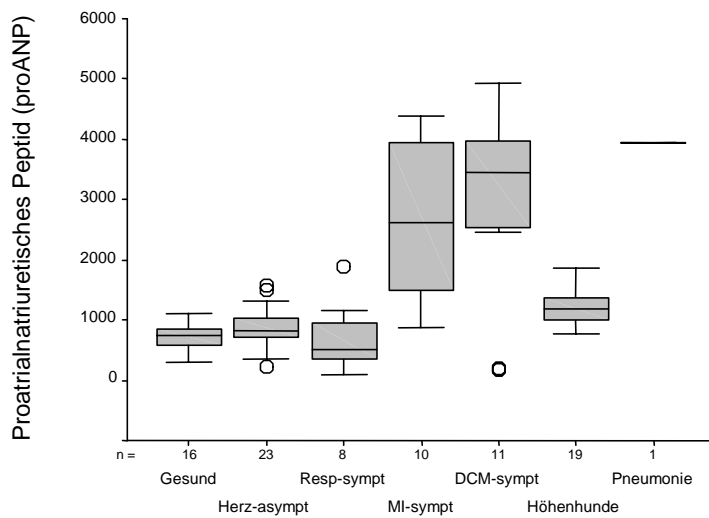


Abb. 10: Boxplotdarstellung des proANP

Die proANP Spiegel korrelierten nicht mit dem Alter ($r=0.13$, $p=0.24$) und nicht mit dem Körpergewicht ($r=0.17$, $p=0.12$). Die proANP Spiegel korrelierten sowohl mit den ultrasonographisch gemessenen Grössen des linken Vorhofs (LA/Ao), $r=0.30$, $p=0.022$) und des linken Ventrikels in Diastole und Systole (LVDI und LVSI, jeweils $r=0.44$, $p=0.001$), als auch mit der radiologisch gemessenen Herzgrösse (VHS, $r=0.47$, $p=0.001$).

Diskussion

Der potentielle klinische Nutzen einer Bestimmung von ANP liegt in der Gewichtung der Differentialdiagnose. So hat in der Humanmedizin bei akut symptomatischen Patienten die Bestimmung kardialer Hormone einen sehr hohen negativen und einen relativ hohen positiven prädiktiven Wert zum Ausschluss bzw. zur Diagnosesicherung eines Herzversagens. Ein klinisch relevanter Aspekt eines guten Screening Tests in der Humanmedizin ist der Kostenaspekt. Bei einem normalen Plasma ANP Spiegel könnte beispielsweise eine Echokardiographie eingespart werden.⁽²⁹⁾

In unseren Untersuchungen waren Plasma proANP 31-67 Spiegel bei Hunden mit Herzversagen infolge Mitralklappenendokardiose oder DCM signifikant höher als bei allen anderen Gruppen. Demgegenüber waren Plasma proANP 31-67 Spiegel bei asymptomatischen Hunden und Kontrolltieren statistisch nicht zu unterscheiden. Dies ist vergleichbar mit früheren ANP Messungen mittels Radioimmunoassay bei Hunden mit und ohne Herzversagen.^(22, 29) Die Tatsache, dass Hunde mit Herzversagen erhöhte und asymptomatische Hunde normale Werte haben, bedeutet noch nicht, dass dieser Test von klinischer Relevanz ist, weil symptomatische und asymptomatische Patienten per definitionem klinisch unterschieden werden können. Wichtig bei der Beurteilung von asymptomatischen Patienten ist die Frage, ob und zu welchem Zeitpunkt eine Behandlung sinnvoll wäre. Es ist eine verbreitete Praxis, bei asymptomatischen Hunden mit einem Herzgeräusch Herzmedikamente zu verabreichen. Werden die normalen proANP Spiegel bei asymptomatischen Hunden als Kriterium genommen, sind in diesem Stadium ohne klinische Symptome auch keine humoralen Hinweise für eine Volumenüberladung vorhanden. Der Herz-Kreislauf solcher Patienten ist also voll kompensiert und der Einsatz von Herzmedikamenten erscheint somit sehr fraglich. Zudem wurde in klinischen Studien gezeigt, dass die frühzeitige medikamentelle Intervention bei Mitralklappenendokardiose keinen Einfluss auf den Verlauf der Erkrankung hat.⁽³⁰⁾ Eine weitere Schwierigkeit bei der Beurteilung von Hunden mit Mitralklappenendokardiose ist das gleichzeitige Vorliegen anderer Erkrankungen, insbesondere Tracheobronchialkollaps, chronische Bronchitis oder idiopathische Lungenfibrose.⁽¹⁾ In unserer Studie waren die proANP Spiegel bei Hunden mit Husten und einem Herzgeräusch, bei welchen nicht eine Mitralklappenendokardiose sondern ein primäres Atemwegproblem als Grundursache postuliert wurde, nicht verschieden

von asymptomatischen Hunden und Kontrollhunden. Demgegenüber waren die Werte bei symptomatischen Hunden infolge einer Mitralklappenendokardiose signifikant höher. Bei der Beurteilung der klinischen Relevanz eines Herzgeräusches hat die proANP Bestimmung also einen gewissen Nutzen. Der positive prädiktive Wert zur Bestimmung der klinischen Relevanz einer Mitralklappenendokardiose auf diese 2 symptomatischen Gruppen 3 und 4 bezogen beträgt bei einem Schwellenwert von 1350 fmol/l 89% und bei einem Schwellenwert von 1700 fmol/l 86%. Die negativen prädiktiven Werte liegen bei diesen Schwellenwerts bei 78% und 63%.

Eine weitere wichtige Frage bei der Beurteilung von symptomatischen Herzpatienten ist der Schweregrad der Herzinsuffizienz. Die Antwort dieser Frage ist wichtig für die adäquate Behandlungsintensität. Nachdem jede Behandlung potentielle Nebenwirkungen haben kann und die Beeinflussung des Elektrolyt- und Flüssigkeitshaushalt andere Organfunktionen beeinträchtigt, ist eine zu aggressive Behandlung abzulehnen. Unsere Resultate zeigen, dass in der Gruppe der symptomatischen Hunde infolge Mitralklappenendokardiose die proANPSpiegel beim Vorliegen eines Lungenödems signifikant höher waren als bei Hunden ohne Lungenödem. Unsere Studie stimmt darin wiederum mit anderen Studien überein, in welchen Hunde mit New York Heart Association (NYHA) IV signifikant höhere NT-proANP 79-98 hatten als Hunde in NYHA III⁽⁸⁾ und in welchen beim Mensch die ANP-Spiegel proportional zum Schweregrad des Herzversagens zunahmen.⁽³¹⁾

Grundsätzlich kann also postuliert werden, dass, je höher der proANP Spiegel bei symptomatischen Herzpatienten liegt, desto gefährdeter der Patient für kongestives Herzversagen ist und desto aggressiver er behandelt werden soll.

Die proANP Spiegel korrelierten sowohl mit den ultrasonographisch gemessenen Grössen des linken Vorhofs (LA/Ao), und des linken Ventrikels in Diastole und Systole, als auch mit der radiologischen Herzgrösse. Dies ist in unserer Studie bemerkenswert, da die Hunde mit Höhenhypoxie mit höheren proANP Spiegel bei normalen Herz- und Vorhofgrössen in die statistische Berechnung eingeschlossen waren. Bei Patienten mit Herzerkrankungen besteht also eine sehr enge Korrelation mit diesen messbaren Parametern, was insofern zu erwarten war, als dass die Dehnung von Vorhöfen und Kammern der primäre Stimulus für die ANP-Sekretion darstellt.⁽³²⁾

Eine weitere wichtige Frage ist jene nach der Ursache einer akuten Dyspnoe. Eine kardiogene Ursache muss grundlegend anders behandelt werden als nicht-

kardiogene Ursachen. Zur Ergründung dieser Frage haben wir proANP bei gesunden Hunden mit einer klar definierten Hypoxie (mittelgradige Höhenhypoxie) und bei einem Hund mit einer Lungenentzündung gemessen. Die Hunde mit Höhenhypoxie hatten signifikant höhere Werte als Kontrollhunde, asymptotische Hunde und MI Hunde mit einer respiratorischen Hustenursache und 5 hatten Werte über dem Schwellenwert von 1350 fmol/l. Der Hund mit Pneumonie hatte einen sehr hohen Wert, im Bereich der höchsten Werte der Hunde mit kardiogenem Lungenödem. Genau in einer solchen Notfallsituation, in welcher die Ursache einer Dyspnoe nicht klar ersichtlich und die schnelle adäquate Behandlung von zentraler Bedeutung ist, wären alternative diagnostische Mittel hilfreich. Jedoch lieferte der erhöhte proANP-Wert in diesem Fall die falsche Information.

Beim Menschen ist bekannt, dass bei hypoxämischem Atemversagen ANP signifikant erhöht ist.⁽³³⁾ Beim Menschen und bei Ratten besteht eine inverse Korrelation zwischen dem arteriellen Sauerstoffpartialdruck (p_aO_2) und dem Plasma ANP Spiegel.^(34, 35) Ein erhöhter ANP-Spiegel führt zu einer Hämokonzentration und eine ANP-induzierte relative Polyzythämie wird als ein Adaptationsmechanismus zur Optimierung der Sauerstoffaufnahme und des Sauerstofftransports bei hypobarer Hypoxie (Höhenhypoxie) betrachtet⁽³⁶⁾

Bei unseren Hunden mit Höhenhypoxie erfolgte der signifikante Anstieg des proANP ohne Veränderung der Ventrikel- und Vorhofgrösse. Eine alveoläre Hypoxie führt zu einer Vasokonstriktion der Pulmonalarterien und damit zu einer pulmonalen Hypertonie, welche auch bereits auf einer Höhe von 2300 m.ü.M. bei diesen Grönlandhunden festgestellt werden kann.⁽²⁴⁾ Bei der experimentellen Hypoxie bei Mensch und Ratte korreliert der Plasma ANP-Spiegel mit dem Lungenarteriendruck.^(35, 37, 38) Interessanterweise war bei den selben Hunden in einer weiteren Studie auch auf 3500 m trotz noch ausgeprägter Hypoxie kein erhöhter Hämatokrit festzustellen. Es bestand also in diesem Zustand der chronischen Hypoxie weder eine ANP-induzierte relative noch eine Erythropoetin-induzierte absolute Polyzythämie.^(23, 24, 39, 40) Eine erhöhte ANP-Sekretion kann also auch bei einer erhöhten Wandspannung ohne Herzdilatation erfolgen.

Als möglicher Mechanismus einer Hypoxie-induzierten ANP-Sekretion ist beim Schwein ein pulmonaler neuraler Reflex beschrieben worden, der während einer Sauerstoffmangels aktiviert wird.⁽⁴¹⁾ Es ist auch möglich, dass gewisse Chemorezeptoren der Luftwege oder der alveolären Arteriolen sensitiv auf eingeatmeten Sauerstoff und in einen ANP-Ausschüttungsmodus involviert sind. In

Lungen von Kaninchen wurden solche Hypoxie-sensitiven Luftwegsrezeptoren beschrieben.^(42, 43)

Neben diesen bereits erwähnten Mechanismen könnte auch ein reduzierter Metabolismus von ANP eine Ursache für dessen Erhöhung darstellen. Es wurden bis heute drei verschiedene natriuretische Rezeptoren gefunden (NPRA und NPRB und NPRC). Es wird spekuliert, dass der NPRC-Rezeptor ein Clearance-Rezeptor ist, welcher ANP aus dem Blutstrom entfernt und mittels einer Endoprotease (EC 3.4.24.11)⁽⁴⁴⁾ abbaut. Theoretisch könnte ein Rezeptordefekt des NPRC-Rezeptors oder ein Proteasedefekt eine Rolle spielen oder rezeptoranaloge Substanzen könnten den Abbaurezeptor blockieren und so den Abbau von ANP verhindern. Schliesslich muss erwähnt sein, dass Plasma ANP und proANP Spiegel auch bei extrakardialen Erkrankungen, insbesondere bei Nierenversagen, erhöht sind.^(15, 21)

Zusammenfassend kann aufgrund dieser Studie festgehalten werden, dass die proANP Plasmakonzentration

- bei einem Hund mit einem Herzgeräusch, der jedoch keine klinischen Symptome zeigt, normal ist und keine nützliche Zusatzinformation liefert;
- bei einem symptomatischen Hund infolge eines Herzproblems, wenn zusätzlich keine pathologischen Veränderungen in einem anderen Organsystem vorliegen, eine recht zuverlässige Aussage über das Stadium der Herzinsuffizienz erlaubt. Der Test kann aber verschiedene Herzerkrankungen nicht voneinander unterscheiden und ersetzt somit andere diagnostische Mittel wie Röntgen oder Echokardiographie nicht;
- aus rein logistischen Gründen nicht in der Notfalldiagnostik verwendet werden kann. Eine Notfallbehandlung bei einer Dyspnoe muss sofort erfolgen, das Resultat einer proANP Bestimmung kann nicht abgewartet werden;
- nicht zur Unterscheidung zwischen einer kardialen und extrakardialen Ursache einer Dyspnoe verwendet werden kann, da eine alveoläre Hypoxie per se eine Erhöhung des Plasma ANP Spiegels bewirkt;
- aus diesen Gründen im Praxisalltag keine grosse Bedeutung haben dürfte.

Literaturliste

1. Baumgartner C, Glaus TM. Acquired cardiac diseases in the dog: A retrospective analysis. Schweiz Arch Tierheilkd 2004;in press.
2. Kittleson MD, Kienle RD. Pathophysiology of heart failure. Small Animal Cardiovascular Medicine 1998:136-148.
3. Cohn JN, Levine TB, Olivari MT, Garberg V, Lura D, Francis GS, Simon AS, Rector T. Plasma norepinephrine as a guide to prognosis in patients with chronic congestive heart failure. N Engl J Med 1984;311(13):819-23.
4. Young RA, Ward A. Milrinone. A preliminary review of its pharmacological properties and therapeutic use. Drugs 1988;36(2):158-92.
5. Manito N, Kaplinsky EJ, Pujol R. [Inotropic therapy in heart failure: general aspects and clinical results]. Med Clin (Barc) 2004;122(7):269-74.
6. Pfeffer MA, Pfeffer JM, Steinberg C, Finn P. Survival after an experimental myocardial infarction: beneficial effects of long-term therapy with captopril. Circulation 1985;72(2):406-12.
7. Controlled clinical evaluation of enalapril in dogs with heart failure: results of the Cooperative Veterinary Enalapril Study Group. The COVE Study Group. J Vet Intern Med 1995;9(4):243-52.
8. Haggstrom J, Hansson K, Kvart C, Karlberg BE, Vuolteenaho O, Olsson K. Effects of naturally acquired decompensated mitral valve regurgitation on the renin-angiotensin-aldosterone system and atrial natriuretic peptide concentration in dogs. Am J Vet Res 1997;58(1):77-82.
9. de Bold AJ, Borenstein HB, Veress AT, Sonnenberg H. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. Life Sci 1981;28(1):89-94.
10. Levin ER, Gardner DG, Samson WK. Natriuretic peptides. N Engl J Med 1998;339(5):321-8.
11. Ahluwalia A, MacAllister RJ, Hobbs AJ. Vascular actions of natriuretic peptides. Cyclic GMP-dependent and -independent mechanisms. Basic Res Cardiol 2004;99(2):83-9.
12. Broqvist M, Dahlstrom U, Karlberg BE, Karlsson E, Marklund T. Neuroendocrine response in acute heart failure and the influence of treatment. Eur Heart J 1989;10(12):1075-83.

13. Ruskoaho H. Atrial natriuretic peptide: synthesis, release, and metabolism. *Pharmacol Rev* 1992;44(4):479-602.
14. Yoshimura M, Yasue H, Ogawa H. Pathophysiological significance and clinical application of ANP and BNP in patients with heart failure. *Can J Physiol Pharmacol* 2001;79(8):730-5.
15. Vollmar AM, Reusch C, Kraft W, Schulz R. Atrial natriuretic peptide concentration in dogs with congestive heart failure, chronic renal failure, and hyperadrenocorticism. *Am J Vet Res* 1991;52(11):1831-4.
16. Itoh H, Nakao K, Sugawara A, Saito Y, Mukoyama M, Morii N, et al. Gamma-atrial natriuretic polypeptide (gamma ANP)-derived peptides in human plasma: cosecretion of N-terminal gamma ANP fragment and alpha ANP. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;67(3):429-37.
17. Sundsfjord JA, Thibault G, Larochelle P, Cantin M. Identification and plasma concentrations of the N-terminal fragment of proatrial natriuretic factor in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;66(3):605-10.
18. Hartter E, Khalafpour S, Missbichler A, Hawa G, Woloszczuk W. Enzyme immunoassays for fragments (epitopes) of human proatrial natriuretic peptides. *Clin Chem Lab Med* 2000;38(1):27-32.
19. Davidson NC, Coutie WJ, Struthers AD. N-terminal proatrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide are stable for up to 6 hours in whole blood in vitro. *Circulation* 1995;91(4):1276-7.
20. McDonagh TA, Robb SD, Murdoch DR, Morton JJ, Ford I, Morrison CE, et al. Biochemical detection of left-ventricular systolic dysfunction. *Lancet* 1998;351(9095):9-13.
21. Vollmar AM. Immunoreactive N-terminal fragment of proatrial natriuretic peptide, ANP (1-98), in plasma of healthy dogs and dogs with impaired volume regulation: a comparison with the C-terminal ANP (99-126). *Res Vet Sci* 1991;50(3):264-8.
22. Haggstrom J, Hansson K, Karlberg BE, Kvart C, Olsson K. Plasma concentration of atrial natriuretic peptide in relation to severity of mitral regurgitation in Cavalier King Charles Spaniels. *Am J Vet Res* 1994;55(5):698-703.
23. Glaus TM, Hauser K, Hassig M, Lipp B, Reusch CE. Non-invasive measurement of the cardiovascular effects of chronic hypoxaemia on dogs living at moderately high altitude. *Vet Rec* 2003;152(26):800-3.

24. Glaus TM, Hassig M, Baumgartner C, Reusch CE. Pulmonary hypertension induced in dogs by hypoxia at different high-altitude levels. *Vet Res Commun* 2003;27(8):661-70.
25. Buchanan JW, Bucheler J. Vertebral scale system to measure canine heart size in radiographs. *J Am Vet Med Assoc* 1995;206(2):194-9.
26. Thomas WP, Gaber CE, Jacobs GJ, Kaplan PM, Lombard CW, Moise NS, et al. Recommendations for standards in transthoracic two-dimensional echocardiography in the dog and cat. Echocardiography Committee of the Specialty of Cardiology, American College of Veterinary Internal Medicine. *J Vet Intern Med* 1993;7(4):247-52.
27. Kittleson MD, Eyster GE, Knowlen GG, Bari Olivier N, Anderson LK. Myocardial function in small dogs with chronic mitral regurgitation and severe congestive heart failure. *J Am Vet Med Assoc* 1984;184(4):455-9.
28. Rishniw M, Erb HN. Evaluation of four 2-dimensional echocardiographic methods of assessing left atrial size in dogs. *J Vet Intern Med* 2000;14(4):429-35.
29. Ruskoaho H. Cardiac hormones as diagnostic tools in heart failure. *Endocr Rev* 2003;24(3):341-56.
30. Kvart C, Haggstrom J, Pedersen HD, Hansson K, Eriksson A, Jarvinen AK, et al. Efficacy of enalapril for prevention of congestive heart failure in dogs with myxomatous valve disease and asymptomatic mitral regurgitation. *J Vet Intern Med* 2002;16(1):80-8.
31. Clerico A, Iervasi G, Del Chicca MG, Emdin M, Maffei S, Nannipieri M, et al. Circulating levels of cardiac natriuretic peptides (ANP and BNP) measured by highly sensitive and specific immunoradiometric assays in normal subjects and in patients with different degrees of heart failure. *J Endocrinol Invest* 1998;21(3):170-9.
32. Ledsome JR, Wilson N, Courneya CA, Rankin AJ. Release of atrial natriuretic peptide by atrial distension. *Can J Physiol Pharmacol* 1985;63(6):739-42.
33. Kullmer T, Haak T, Winkelmann BR, Morbitzer D, Jungmann E, Meier-Sydow J. Hormonal modifications in patients admitted to an internal intensive care unit for acute hypoxaemic respiratory failure. *Respir Med* 1996;90(10):601-8.
34. Kawashima A, Kubo K, Hirai K, Yoshikawa S, Matsuzawa Y, Kobayashi T. Plasma levels of atrial natriuretic peptide under acute hypoxia in normal subjects. *Respir Physiol* 1989;76(1):79-91.
35. Albert TS, Tucker VL, Renkin EM. Atrial natriuretic peptide levels and plasma volume contraction in acute alveolar hypoxia. *J Appl Physiol* 1997;82(1):102-10.

36. Grover RF, Reeves JT, Rowell LB, Piantadosi CA, Saltzmann HA. The influence of environmental factors on the cardiovascular system. *Hurst's the heart* 1998;9th edn:2327-2345.
37. Kawashima A, Kubo K, Matsuzawa Y, Kobayashi T, Sekiguchi M. Hypoxia-induced ANP secretion in subjects susceptible to high-altitude pulmonary edema. *Respir Physiol* 1992;89(3):309-17.
38. Albert TS, Tucker VL, Renkin EM. Acute alveolar hypoxia increases blood-to-tissue albumin transport: role of atrial natriuretic peptide. *J Appl Physiol* 1997;82(1):111-7.
39. Glaus TM, Tomsa K, Hassig M, Reusch C. Echocardiographic changes induced by moderate to marked hypobaric hypoxia in dogs. *Vet Radiol Ultrasound* 2004;45(3):233-7.
40. Glaus TM, Grenacher B, Koch D, B. R, Gassmann M. High altitude training of dogs results in elevated erythropoietin and endothelin-1 serum results. *Comparative Biochemistry and Physiology* in press 2004.
41. Lew RA, Baertschi AJ. Mechanisms of hypoxia-induced atrial natriuretic factor release from rat hearts. *Am J Physiol* 1989;257(1 Pt 2):H147-56.
42. Lauweryns JM, de Bock V, Guelinckx P, Decramer M. Effects of unilateral hypoxia on neuroepithelial bodies in rabbit lungs. *J Appl Physiol* 1983;55(6):1665-8.
43. Youngson C, Nurse C, Yeger H, Cutz E. Oxygen sensing in airway chemoreceptors. *Nature* 1993;365(6442):153-5.
44. Gerbes AL, Vollmar AM. Degradation and clearance of atrial natriuretic factors (ANF). *Life Sci* 1990;47(14):1173-80.

Lebenslauf

Name	Franziska Hauswirth Reich
Geburtsdatum	21. Februar 1970
Geburtsort	Inselspital Bern
Nationalität	Schweizerin
Heimatort	Saanen BE

1977 - 1986	Primar- und Sekundarschule Ebnet, Gstaad BE
1986 - 1989	Ecole de Commerce Supérieure, La Neuveville, Handelsdiplom
1989	3 Monate Sprachaufenthalt Cambridge, England
1990 – 1994	Feusi Gymnasium, Bern, Maturität Typus D, Teilzeitarbeit als kaufmännische Angestellte
1994 - 2000	Studium der Veterinärmedizin an der Universität Bern
Ende 2000	Staatsexamen Bern
2001 - 2003	Assistentin Kleintierpraxis Laupeneck, Bern Klinische Dissertation in Zusammenarbeit mit Dr. FVH med. vet. B. Bigler und Dr. med. vet. T. Glaus Dipl. ACVIM, Dipl. ECVIM-CA (Cardiology)
2003 - 2004	Hospitanz „FVH-Internship“ an der Universität Zürich

Zürich, Juli 2004

Danksagung

An dieser Stelle bedanke ich mich bei all jenen, welche durch ihre Unterstützung zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, insbesondere

Herrn Dr. med. vet. T. Glaus für die wissenschaftliche Leitung dieses Projektes und die Ultraschallauswertungen. Tony, Deine Begeisterung für die Thematik ist ansteckend.

Herrn Dr. med. vet. B. Bigler, Labor Laupeneck, Bern. Er ist Initiant dieser Studie, hat die proANP Messungen ermöglicht, ausgewertet und die Infrastruktur für die klinische Aufarbeitung der Patienten zur Verfügung gestellt.

Frau Prof. Dr. C. Reusch, Referentin für die Durchsicht und Korrektur des Manuskripts.

Herrn Prof. Dr. Max Gassmann, Koreferent für die Durchsicht des Manuskripts.

Herrn Dr. med. vet. Martin Philipp, für die Auswertung aller Röntgenbilder und die Ultraschalluntersuchungen der Hunde, welche in der Kleintierpraxis Laupeneck untersucht worden waren.

Frau Sandra Amati und dem Team des Labors Laupeneck für die Laborarbeit.

Frau Tatjana Aebersold und dem Team der Praxis Laupeneck für die Mithilfe bei der klinischen Aufarbeitung. Tatjana, danke für Deine Freundschaft und Anteilnahme.

Herrn Dr. med. vet. K. Güller, Bern für die Nutzung der Infrastruktur der Praxis Laupeneck und seine konstruktive Kritik und Wegleitung.

Herrn Prof Dr. C. Lombard und Frau Dr. med. vet. Uta von Bodungen für die Ultraschall-Untersuchungen.

Meinem Mann Martin, meinen Eltern Hanskurt und Lisa für die Geduld und die moralische Unterstützung in dieser Zeit.